Iranian Food Science and Technology Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 2, May-June 2024, p. 217-227

Investigation of Thermal Stability of Sunflower and Olive Triacylglycerols under the Influence of Gallic Acid and Methyl Gallate

M. Akbari[1], R. Farhoosh[2]*, M. Moeenfard[3]

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

Received: 15.01.2023 Revised: 19.06.2023 Accepted: 25.06.2023 Available Online: 26.06.2023	**How to cite this article:** Akbari, M., Farhoosh, R., & Moeenfard, M. (2024). Investigation of thermal stability of sunflower and olive triacylglycerols under the influence of gallic acid and methyl gallate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(2), 217-227. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80273.1228

Introduction

Today, many edible oils such as palms, corn, soybeans and sunflowers are used in food preparation. Essential oleic, linoleic and linolenic fatty acids, found abundantly in olive, sunflower and soybean oils, respectively, play an important role in maintaining health. Antioxidant compounds are used to increase the shelf life of oils, which are classified into two groups of natural and synthetic antioxidants based on the source of production. Phenolic acids are a subset of a large group of phenolic compounds that are used as natural antioxidants in industry. Gallic acid is much stronger than protocatchuic acid due to its three hydroxyl groups. However, the presence of more than three hydroxyl groups does not seem to increase the antioxidant effect in oily systems. The position of the hydroxyl group on the aromatic ring also affects the antioxidant activity, so that the replacement of the hydroxyl group in the ortho and para position increases the antioxidant activity of phenolic acids. Methyl gallate, which is widely found in plants and polyphenolic secondary metabolites, is a natural antioxidant. Despite efforts to date, no suitable natural antioxidant has been proposed to control the thermal oxidation of oils at high temperatures. Therefore, due to the widespread use of oils in food, the thermal stability of natural antioxidants gallic acid and methyl-gallate compared to the powerful but synthetic antioxidant TBHQ, depending on the degree of satiety of the lipid system (sunflower oil and olive oil) and 80 degrees Celsius will be evaluated in this study.

Material and Methods

Samples of sunflower and olive oil were purchased from local stores. All chemicals and solvents were provided by Merck and Charlot. Sunflower and olive oil were purified by column chromatography to remove natural antioxidants. Oxidation of purified sunflower oil (1 g per oil) in the presence of a concentration level of gallic acid, methyl gallate and TBHQ (1.2 µmol/g) in glass bottles. The rate of progression of oxidative reactions and the evaluation of oil quality during temperature application is possible by measuring the peroxide number. The carbonyl number is determined using 2-propanol as solvent and 2,4 decodenal as standard and absorbance at 420 nm. The effect of antioxidants (InH) on the oxidation of the test samples can be measured based on the kinetic parameters. These parameters are stability factor F, ORR oxidation rate ratio, activity A and average consumption of WInH antioxidants.

Results and Discussion

The minimum and maximum induction times are related to the control sample and the sample containing the synthetic antioxidant TBHQ, respectively, which, considering the position of the two hydroxyl groups in the para

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80273.1228

position relative to each other in the TBHQ molecule, make this antioxidant stronger. Justifies. At 80 °C and in sunflower oil, the antioxidant methyl gallate shows a more effective stability factor (F) and antioxidant activity (A), indicating greater antioxidant power than gallic acid. Similarly, F-ORR-A values in methylgalate treatment have a significant effectiveness compared to other treatments. The higher oxidative stability of olive oil against sunflower oils can be attributed to the small amounts of oleic acid and especially the small amounts of linolenic acid in olives. Stability factor (F), is significantly higher for the TBHQ antioxidant than the values obtained for the other two. This factor is affected by the induction period of antioxidants and can be expected due to the effectiveness of antioxidants in increasing the duration of the induction period. The highest value obtained for the ORR oxidation rate parameter, is related to the antioxidant gallic acid. The parameter of antioxidant activity A, in TBHQ is higher than the other two antioxidants. Measurement of carbonyl compounds resulting from the decomposition of hydroperoxides is a good measure of the rate of development of oxidative reactions. In the treatment of gallic acid and TBHQ, the changes in the carbonyl number decrease at the end of the annealing, which is probably due to the decomposition of carbonyl compounds and the production of polymer compounds. Which cannot be measured by carbonyl number test.

Conclusion

Better efficacy of gallic acid compared to methyl gallate in olive oil and better efficacy of methyl gallate compared to gallic acid in sunflower oil at 80 °C show the composition of fatty acids, the nature of lipid systems and the position of antioxidants in the reaction medium. Have a great effect on improving the performance of antioxidants. Determination of oxidative stability based on carbonyl number shows similar results to peroxide number.

Keywords: Oxidative indices, Thermal kinetics, Thermal stability

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۳، ص. ۲۲۷-۲۱۷

بررسی پایداری حرارتی تری‌آسیل‌گلیسرول‌های آفتابگردان و زیتون تحت تأثیر اسیدگالیک و متیل‌گالات

مژگان اکبری[۱]- رضا فرهوش[۲*]- مرضیه معین فرد[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۴

چکیده

در پژوهش حاضر، تجزیه‌وتحلیل سینتیکی رفتار آنتی‌اکسیدانی اسیدگالیک، متیل‌گالات و TBHQ در تری‌آسیل‌گلیسرول‌های روغن‌زیتون و آفتابگردان انجام شد. فرایند اکسایش روغن‌ها در رژیم سینتیکی (غلظت بالای اکسیژن) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و در یک سطح غلظتی (۱/۲ میکرو مول بر گرم) در محیط تاریک صورت گرفت. پارامترهای سینتیکی مختلف شامل فاکتور پایدارسازی (F) که نمایانگر میزان کارآمدی، نسبت سرعت اکسایش (ORR) که نمایانگر قدرت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (A) که ترکیب فاکتور پایداری و قدرت موردبررسی قرار گرفت. پایداری اکسایشی تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها به‌صورت معنی‌داری در حضور آنتی‌اکسیدان‌های افزوده‌شده در سطح غلظتی و دمایی، نسبت به نمونه کنترل بهبود یافت. در دمای ۸۰ و هر دو نوع تری‌آسیل‌گلیسرید مورداستفاده، قدرت آنتی‌اکسیدانی TBHQ به‌طور معنی‌داری از اسیدگالیک و متیل‌گالات بیشتر بود. در روغن آفتابگردان، متیل‌گالات قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسیدگالیک نشان داد و نتایج به‌دست‌آمده با خاصیت حملی بالاتر اسیدگالیک مطابقت نداشت، درحالی‌که در روغن‌زیتون، اسیدگالیک قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان داد. زمان لازم برای رسیدن به حد بحرانی عدد کربونیل، برای هر دو نوع تری‌آسیل‌گلیسرول و تمام تیمارها به‌صورت معنی‌دار نسبت به تیمار کنترل، در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، بهبود نشان داد و بین دو تیمار اسیدگالیک و متیل‌گالات، متیل‌گالات مؤثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: پایداری حرارتی، سینتیک، عددهای اکسیداسیون

مقدمه

امروزه بسیاری از روغن‌های خوراکی نظیر انواع نخل، ذرت، سویا و آفتابگردان صرف آماده‌سازی موادغذایی می‌شوند. روغن‌های پنبه‌دانه، ذرت، بادام‌زمینی و زیتون حاوی میزان کمی اسیدلینولنیک بوده و منبع مناسبی ازنظر اسیدهای چرب چند غیراشباع به شمار می‌روند. روغن‌های خوراکی مختلف حائز درجه سیرناشدگی و ساختار اسیدچربی متفاوتی بوده و کیفیت و کمیت ترکیبات غیرتری‌آسیل‌گلیسرولی آن‌ها نیز باهم فرق دارد (Kamal-Eldin, 2006). برخلاف روغن‌های حیوانی که عمدتاً اشباع هستند و به‌راحتی با اکسیژن وارد واکنش نمی‌شوند، روغن‌های گیاهی کمتر اشباع‌اند و حساسیت بیشتری نسبت به واکنش‌های اکسایشی از خود نشان می‌دهند (Matalgyto & Al-Khalifa, 1998). اسیدهای چرب ضروری اولئیک، لینولئیک و لینولنیک که به‌ترتیب در روغن‌های زیتون، آفتابگردان و سویا به فراوانی یافت می‌شوند، نقش مهمی در حفظ سلامت و ادامه حیات دارند و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان را کاهش می‌دهند. (Matalgyto & Al-Khalifa, 1998). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جهت افزایش ماندگاری روغن‌ها مورداستفاده می‌باشند، که براساس منشأ تولید به دو گروه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طبقه‌بندی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های به‌کاررفته در فرآیند موادغذایی باید ارزان، غیر سمی، مؤثر در غلظت کم، پایدار، و باقی در شرایط فرایند (دارای

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذائی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80273.1228

خصوصیات حملی[1]) باشند. رنگ، طعم و بوی این مواد باید حداقل باشد. انتخاب نوع آنتی‌اکسیدانی که به کار می‌رود به قابلیت محصول و قوانین موجود بستگی دارد (Frankel, 2005). آنتی‌اکسیدان‌ها نه‌تنها زمان نگهداری محصولات را افزایش می‌دهند بلکه ضایعات مواد خام را نیز کاهش می‌دهند، از بروز افت تغذیه‌ای می‌کاهند و محدوده کاربرد چربی‌ها در محصولات خاص را افزایش می‌دهند. اسیدهای فنلی زیرمجموعه گروه بزرگی از ترکیبات فنلی می‌باشند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنعت کاربرد دارند. ترکیبات فنلی به‌وسیله‌ی مکانیسم‌های مختلف از قبیل خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، مهار فلزات و اتصال به پروتئین، خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تنها به خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن محدود نمی‌شود و اثر سینرژیستی بین آنتی‌اکسیدان‌های مختلف، اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را افزایش می‌دهد (Leopoldini, *et al.*, 2004). اسیدگالیک (۳،۴،۵- تری هیدروکسی بنزوئیک اسید)[2] به‌عنوان آنتی‌اکسیدان فنلی طبیعی به‌طور گسترده‌ای در گیاهان ازجمله چای و در نوشیدنی‌ها، آجیل، سماق، پوست درخت بلوط و توت‌فرنگی، آناناس، موز، لیمو، انگور قرمز، پوست سیب و سایر گیاهان دارویی مختلف یافت می‌شود (Tanaka, 1999; Borde *et al.*, 2011) و فعالیت ضد باکتری، ضدویروسی و ضدالتهابی آن از طریق مهار فعالیت آنزیم تیروزیناز به اثبات رسیده است (Kim *et al.*, 2006). برخی استرهای اسیدگالیک به موجب خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و بیولوژیکی در طیف وسیعی از محصولات غذایی و دارویی مورداستفاده قرارگرفته‌اند (Kanai & Okano, 1998). همچنین مشتقات آسیل اسیدگالیک در پیشگیری از پراکسایش چربی‌ها در غشاء سلول مؤثر واقع شده‌اند. مکانیسم اصلی آنتی‌اکسیدانی آنتی‌اکسیدان‌های اولیه، گیرندگی رادیکال است. آنتی‌اکسیدان‌های اولیه، مونو و پلی‌هیدروکسی‌فنل‌های حامل استخلاف‌های مختلف هستند. استقرار گروه‌های دهنده الکترون در مواضع اورتو و پارا سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب می‌شود. گروه‌های بوتیل و اتیل در موضع پارا موجب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. به علت ممانعت فضایی، وجود زنجیرهای بلندتر یا گروه‌های آلکیل شاخه‌دار در موضع پارا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر منفی می‌گذارد. جانشین شدن گروه‌های آلکیل شاخه‌دار در موقعیت ارتو قابلیت آنتی‌اکسیدان‌های فنلی در تشکیل رزونانس‌های پایدار را افزایش می‌دهد و به‌تبع آن شرکت رادیکال آنتی‌اکسیدان را در واکنش‌های انتشار کاهش می‌دهد. متداول‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های اولیه به‌کار رفته در موادغذایی، ترکیبات سنتزی هستند. مثال‌هایی از آنتی‌اکسیدان‌های فنلی اولیه مهم، هیدروکسی‌آنیزول‌بوتیله (BHA)، هیدروکسی‌تولوئن بوتیله (BHT)، پروپیل‌گالات (PG) و ترسیوبوتیل‌هیدروکینون (TBHQ) است. توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها گروه دیگری از ترکیبات طبیعی هستند که با مکانیسم‌های متفاوتی از فنل‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولیه دارند. اسیدهای فنلی ازجمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مؤثر مطرح در این خصوص محسوب می‌شوند. این ترکیبات ازنظر ساختمان شیمیایی از مشتقات اسیدهای بنزوئیک و سینامیک محسوب می‌شوند که ممکن است به شکل آزاد، مزدوج یا استری وجود داشته باشند. وجود یک حلقه فنلی و زنجیره‌های جانبی در ساختمان ملکولی اسیدهای فنلی، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را به آن‌ها بخشیده است (Marinova & Yanishlieva, 1992). توانایی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به حضور و تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در آن‌ها بستگی دارد (Pekkarinen *et al.*, 1999; Wanasundara & Shahidi, 2005). پوکورنی (Pokorny,1988) بیان داشته است اسیدهای فنلی دارای یک عامل هیدروکسیل نسبت به اسیدهای دارای چند عامل هیدروکسیل قدرت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارند. اسیدگالیک به‌دلیل دارا بودن سه گروه هیدروکسیل بسیار قوی‌تر از اسید پروتوکاتچوئیک است. اما به‌نظر می‌رسد وجود بیش از سه گروه هیدروکسیل اثر آنتی‌اکسیدانی را در سیستم‌های روغنی افزایش نمی‌دهد. موقعیت گروه هیدروکسیل روی حلقه آروماتیک نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌طوری‌که جایگزینی گروه هیدروکسیل در موقعیت اورتو و پارا فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای فنلی را افزایش می‌دهد (Wanasundara & Shahidi, 1998). مرکل و همکاران (Merkl *et al.*, 2010) در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استرهای اسیدپاراهیدروکسی بنزوئیک (پارابن‌ها) در روغن به روش رنسیمت مشاهده کردند فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش طول زنجیره استری افزایش می‌یابد. مونو و پلی هیدروکسی فنل‌های حامل استخلاف‌های مختلف نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه محسوب می‌شوند. گروه‌های بوتیل و اتیل در موضع پارا موجب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردند. به‌علت ممانعت فضایی، وجود زنجیره‌ای بلندتر یا گروه‌های الکیل شاخه‌دار در موضع پارا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر منفی می‌گذارد. جانشین شدن گروه‌های الکیل شاخه‌دار در موقعیت اورتو قابلیت آنتی‌اکسیدان‌های فنلی در تشکیل هیبریدهای رزونانسی پایدار را افزایش می‌دهد و به‌تبع آن شرکت رادیکال آنتی‌اکسیدان را در واکنش‌های انتشار کاهش می‌دهد (Cao *et al.*,1996; Rice-Evans *et al.*,1996). متیل‌گالات که به‌طور گسترده‌ای در گیاهان و متابولیتهای ثانویه پلی فنلی یافت می‌شود به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی مطرح است. همچنین سایر مشتقات اسیدگالیک نیز در پیشگیری از اکسایش چربی‌ها در غشای سلول مؤثر تشخیص داده‌شده‌اند.

1- Carry-throgh property

2- 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid

کیکوزاکی و همکاران (Kikuzaki *et al.*, 2002) با بررسی اثر استرهای اسیدگالیک (متیل‌گالات، پروپیل‌گالات، لوریل‌گالات) در متیل‌لینولئات در ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به اثربخشی بیشتر متیل‌گالات نسبت به سایر استرهای اسیدگالیک پی بردند. اثنی عشری و همکاران (Asnaashari *et al.*, 2014) نشان دادند پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا در حضور متیل‌گالات نسبت به اسیدگالیک و توکوفرول در ۵۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر می‌باشد. در تحقیقی که قابلیت آنتی‌اکسیدانی اسیدگالیک و متیل‌گالات در برابر تشکیل هیدروپراکسیدهای لیپیدی و ترکیبات قطبی متفاوت در شرایط دمایی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، در تری‌آسیل‌گلیسرول‌های روغن آفتابگردان مورد ارزیابی قرار گرفت، مشخص شد ترکیبات فنلی طبیعی اسیدگالیک و متیل‌گالات نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی و قدرتمند TBHQ در دماهای بالا قابلیت جلوگیری از اکسایش کلی بهتری دارند. علی‌رغم فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تر اسیدگالیک در دماهای پائین، در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نشان داد (Farhoosh & Nystrom, 2018). با توجه به اهمیت حفظ کیفیت روغن‌ها در برابر تنش حرارتی، محققان آنتی‌اکسیدان‌های مختلفی را موردبررسی قرار داده‌اند که از آن جمله می‌توان به استفاده از پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها اشاره کرد. به‌رغم تلاش‌های صورت گرفته تاکنون آنتی‌اکسیدان طبیعی مناسب برای کنترل اکسایش حرارتی روغن‌ها در دمای بالا پیشنهاد نشده است. لذا با توجه به کاربرد گسترده روغن‌ها در موادغذایی، پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اسیدگالیک و متیل‌گالات نسبت به آنتی‌اکسیدان قدرتمند اما سنتزی TBHQ به تبعیت از درجه سیرناشدگی سیستم لیپیدی (روغن آفتابگردان و روغن زیتون) و درجه حرارت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در این تحقیق مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

نمونه روغن آفتابگردان و زیتون از فروشگاه‌های محلی خریداری شدند. تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از قبیل آلومینا ۶۰، در این پژوهش از درجهٔ آنالیتیکال بودند و از شرکت‌های مرک و شارلو تأمین شدند. آزمون‌ها در محل آزمایشگاه تجزیه دانشگاه انجام گرفت.

تخلیص روغن

به‌منظور حذف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، روغن آفتابگردان و زیتون به روش کروماتوگرافی ستونی تخلیص گردیدند (Marinova & Yanishlieva, 1995). بدین‌صورت که انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۲/۵ سانتی‌متر و طول ۵۲ سانتی‌متر به ارلن خلا متصل شد. ۱۰۰ گرم آلومینا ۶۰ (نوع ۱ فعال خنثی) که در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت فعال‌شده بود به‌طور یکنواخت داخل ستون ریخته شد. مقدار ۹۰ گرم از نمونه‌های روغن به آرامی روی ستون آلومینا منتقل گردید و با برقراری خلأ نمونه‌های روغن از ستون عبور داده شدند. به‌منظور جلوگیری از اکسایش روغن، اطراف ستون کروماتوگرافی و ارلن جمع‌آوری روغن با فویل آلومینیوم کاملاً پوشانده شد (Asnaashari *et al.*, 2014). برای اطمینان از صحت فرایند تخلیص میزان ترکیبات توکوفرولی، فنل و عدد پراکسید روغن‌های تخلیص شده اندازه‌گیری شد.

آزمون پایداری اکسایشی روغن‌ها در آون

اکسایش روغن تخلیص شده آفتابگردان و زیتون (میزان ۴ گرم از هر روغن) در حضور یک سطح غلظتی اسیدگالیک، متیل گالات و TBHQ (۱/۲ میکرو مول بر گرم) در بلیت‌های شیشه‌ای با قطر داخلی ۹ سانتی‌متر و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون پایش شد. نمونه‌گیری در زمان‌های متوالی (۱۵ دقیقه‌ای) انجام شد و دوره القای تولید هیدروپراکسیدها تعیین گردید. به‌منظور محاسبه دوره القای اکسایش لیپیدی برحسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص‌های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید. سپس، معادلات خطی مرتبط با بخش‌های آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برازش داده شد و آنگاه دوره‌های القا از تلاقی دادن معادلات خطی یادشده محاسبه گردید. (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2014).

عدد پراکسید

میزان پیشرفت واکنش‌های اکسایشی و ارزیابی کیفیت روغن در طی اعمال دما، با اندازه‌گیری فرآورده‌های حاصل از واکنش‌های تخریبی هیدرولیز و اکسایش امکان‌پذیر می‌باشد. در روش مورداستفاده از قابلیت پراکسیدهای لیپیدی در اکسایش یون‌های آهن دو استفاده می‌شود. یون‌های آهن II در شرایط واکنش، کمپلکس رنگی تولید می‌کنند که با روش اسپکتروفتومتری قابل‌اندازه‌گیری است (Shantha & Decker, 1994).

عدد کربونیل

عدد کربونیل با استفاده از ۲-پروپانول به‌عنوان حلال و ۲،۴ دکا دی انال به‌عنوان استاندارد و جذب در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر تعیین می‌گردد. در این روش، ترکیبات کربونیلی با ۲، ۴ -دی نیتروفنیل هیدرازین واکنش داده و مشتقات ۲، ۴ -دی نیتروفنیل هیدرازون را تشکیل می‌دهد که این ماده به کینوئیدال‌ها تبدیل می‌شود. کینوئیدال‌ها در محلول‌های قلیائی، رنگ شرابی تولید می‌کنند. با اندازه‌گیری جذب

محلول، ترکیبات کربونیل تعیین مقدار می‌شود. (Endo *et al.*, 2001) حد مجاز عدد کربونیل یک روغن سرخ‌کردنی مستعمل کمتر یا مساوی ۴۳/۵ میکرو مول بر گرم گزارش‌شده است. (Farhoosh & Tavasoli Kafrani, 2011)

پارامترهای سینتیکی اکسایش

اثر آنتی‌اکسیدان‌ها (InH) بر اکسایش نمونه‌های مورد آزمایش بر پایه پارامترهای سینتیکی که اکسایش لیپیدها را در طول مراحل اولیه مشخص می‌کنند، قابل اندازه‌گیری است. این پارامترها عبارت‌اند از فاکتور پایداری (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR)، فعالیت (A) و متوسط مصرف آنتی‌اکسیدان (W_{InH}) که نحوه محاسبه آن‌ها در ادامه ذکرشده است (Yanishlieva *et al.*, 1999; Farhoosh, 2005). پارامتر (F) به عنوان احتمال توقف فرآیند رادیکالی زنجیره‌ای به وسیله مهارکنندگی رادیکال‌های پراکسید شناخته می‌شود. این پارامتر مسئول مدت دوره القا (IP) می‌باشد:

$$F = {}^{IP_{inh}}/_{IP_0} \quad (۱)$$

که IP_{inh} و IP_o، IP در حضوروغیاب آنتی‌اکسیدان می‌باشند. هر چه مقدار F بیشتر باشد یعنی آنتی‌اکسیدان اثربخش‌تر است. ORR معکوس معیار قدرت است که آن را نسبت سرعت اکسایش نیز می‌نامند و هر چه مقدار آن کمتر باشد آنتی‌اکسیدان قوی‌تر است. اگر مقدار آن از یک بیشتر باشد، آنتی‌اکسیدان یک پراکسیدان محسوب می‌شود:

$$ORR = {}^{W_{inh}}/_{W_0} \quad (۲)$$

که W_{inh} و W_o، سرعت اکسایش در حضوروغیاب آنتی‌اکسیدان است (تانژانت مرحله آغازین خطی منحنی سینتیک اکسایش لیپید) سرعت‌های اکسایش از $meq\ kg^{-1}h^{-1}$ به MS^{-1} توسط معادله (۳) مجدداً محاسبه می‌شوند(Marinova & Yanishlieva, 1992). اکتیویتی (A) پارامتر معمولی است که پارامترهای F و ORR را به هم مرتبط می‌کند:

$$1meqkg^{-1}h^{-1} = 1.4 \times 10^{-7}MS^{-1} \quad (۳)$$

$$A = {}^{F}/_{ORR} \quad (۴)$$

درنهایت با بررسی و تجزیه‌وتحلیل پارامترهای یادشده می‌توان روند فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های موردمطالعه در دمای مشخص‌شده را در سیستم‌های لیپیدی تحت مطالعه تعیین نمود (Denisove & Khudyakov, 1987).

تجزیه و تحلیل آماری

همه اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها برای صفات اندازه‌گیری شده بر اساس طرح‌های کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین صفات کمی با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید (Asnaashari *et al.*, 2014).

نتایج و بحث

پارامترهای سینتیکی اندازه‌گیری شده در روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۱ و روغن‌زیتون در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

جدول ۱- پارامترهای سینتیکی روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد*

Table 1- Kinetics parameter of sunflower oil at 80°C(the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی‌اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی اکسیدان	IP (min) دوره القا	K_{ip} (mMh^{-1}) شیب نمودار غلظت هیدروپراکسید نسبت به زمان	[LOOH]max (mM) حداکثر غلظت هیدروپراکسید	F فاکتور پایداری	ORR (10^{-3}) نسبت سرعت اکسایش	A فعالیت
CONTROL	0	$265^{a} \pm 0.44$	$9.81^{d} \pm 0.06$	$196^{d} \pm 2$	0	0	0
GA	1.2	$2252^{b} \pm 3$	$0.22^{c} \pm 0.00$	$131^{b} \pm 2$	$8.49^{a} \pm 0.02$	$23^{b} \pm 0.04$	$368^{a} \pm 9$
MG	1.2	$2523^{c} \pm 3$	$0.22^{b} \pm 0.00$	$159^{c} \pm 0.4$	$9.51^{b} \pm 0.02$	$22.8^{b} \pm 0.023$	$416^{a} \pm 3$
TBHQ	1.2	$5402^{d} \pm 6$	$0.08^{a} \pm 0.00$	$113^{a} \pm 0.58$	$20.3^{c} \pm 0.0$	$8.1^{a} \pm 0.35$	$2501^{b} \pm 104$

*(اختلاف میانگین‌ها[1] در سطح ۰/۰۵ ٪ معنی‌دار است)

1- Mean diffrence

جدول ۲- پارامترهای سینتیکی روغن‌زیتون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد

Table 2- Kinetics parameter of olive oil at 80°C(the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی‌اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی اکسیدان	IP (min) دوره القا	K_{ip} (mMh^{-1}) شیب نمودار غلظت هیدروپراکسید نسبت به زمان	[LOOH]max (mM) حداکثر غلظت هیدروپراکسید	F فاکتور پایداری	ORR (10^{-3}) نسبت سرعت اکسایش	A فعالیت
CONTROL	0	$1052^{a}\pm0.78$	$0.61^{d}\pm0.01$	$94.7^{a}\pm0.7$	0	0	0
GA	1.2	$4313^{c}\pm8.$	$0.09^{b}\pm0.00$	$111^{c}\pm1$	$4.09^{b}\pm0.00$	$0.15^{b}\pm0.00$	$26.8^{a}\pm0.4$
MG	1.2	$3443^{b}\pm10$	$0.12^{c}\pm0.00$	$120^{d}\pm1$	$3.27^{a}\pm0.00$	$0.19^{c}\pm0.00$	$16.5^{a}\pm0.2$
TBHQ	1.2	$11188^{d}\pm44$	$0.01^{a}\pm0.0$	$104^{b}\pm1$	$10.6^{c}\pm0.0$	$0.02^{a}\pm0.00$	$363^{b}\pm10$

* (اختلاف میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ ٪ معنی‌دار است)

همان‌طور که در جدول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، کمترین و بیشترین زمان القا، به‌ترتیب مربوط به نمونه کنترل و نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ می‌باشد که با عنایت به قرارگیری دو گروه هیدروکسیل در موقعیت پارا نسبت به هم در ملکول TBHQ، قوی‌تر بودن این آنتی‌اکسیدان را توجیه می‌کند. در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و در روغن آفتابگردان، آنتی‌اکسیدان متیل‌گالات، فاکتور پایداری (F) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (A) اثربخش‌تری را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر از اسیدگالیک، می‌باشد. وجود گروه متیل استخلافی در کربوکسیل ملکول متیل‌گالات، منجر به افزایش تشکیل پیوند هیدروژنی درون ملکولی شده و درنتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسب‌تری را به‌وجود می‌آورد. هرچند به‌علت اختلاف کم قدرت آنتی اکسیدانی بین دو ملکول اسیدگالیک و متیل‌گالات، سرعت اکسایش در حضور این دو آنتی‌اکسیدان معنی‌دار نمی‌باشد. در روغن‌زیتون، کمترین و بیشترین مقدار غلظت هیدروپراکسید، مربوط به نمونه کنترل و تیمار متیل‌گالات می‌باشد. به همین ترتیب مقادیر F-ORR-A در تیمار متیل‌گالات، اثربخشی قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به تیمارهای دیگر دارد. در تحقیقات انجام‌شده مقدار اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) به‌ترتیب به روغن‌های آفتابگردان (۵۵/۲۲ درصد) و زیتون (۹/۲۸ درصد) اختصاص داشت. اسیدهای لینولئیک و اولئیک، اسیدهای چند غیراشباع و تک غیراشباع عمده روغن آفتابگردان و زیتون بودند (به ترتیب ۵۴/۶۰ و ۲۷/۸۶ درصد و ۸/۶۷ و ۶۸/۰۴ درصد). روغن آفتابگردان حاوی بیشترین میزان اسید چرب چند غیراشباع لینولنیک در بین روغن‌های موردمطالعه بود و پس‌ازآن از این حیث، روغن‌زیتون قرار گرفت. میزان بالای اسیدهای چرب چند غیراشباع سبب افزایش اکسایش پذیری روغن‌ها و درنتیجه کاهش پایداری آن‌ها می‌شود. نسبت اسیدهای چرب چند غیراشباع به اشباع (PUFA/SFA) در روغن آفتابگردان و روغن‌زیتون، به‌ترتیب ۳/۳۹ و ۰/۴۸درصد بود. این نسبت معمولاً به‌عنوان معیاری از میزان سیرناشدگی روغن‌ها و چربی‌ها و نیز تمایل آن‌ها به خوداکسایش لیپیدی در نظر گرفته می‌شود (Mendez *et al.*, 1996). ازاین‌رو، بیشترین میزان پایداری اکسایشی از دیدگاه ساختار اسید چربی را می‌توان به روغن‌زیتون نسبت داد. پایین بودن پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان را می‌توان به بالا بودن میزان PUFA و نیز پایین بودن میزان تک غیر اشباع (MUFA) آن نسبت داد. برطبق پایداری اکسایشی تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، روغن‌زیتون بیشترین پایداری حرارتی در تشکیل محصولات اولیه (هیدروپراکسیدها) و ثانویه اکسایش را داراست و روغن آفتابگردان به‌طور قابل‌توجهی ناپایدارتر از زیتون می‌باشد. پایداری اکسایشی بیشتر روغن‌زیتون در برابر روغن‌های آفتابگردان را می‌توان به مقادیر جزئی بیشتر اسید اولئیک و به‌ویژه مقادیر جزئی اسید لینولنیک در زیتون مرتبط دانست. سرعت اکسایش نسبی اسیدهای اولئیک، لینولئیک و لینولنیک به‌ترتیب ۲۵:۱۲:۱ گزارش‌شده است (Hsieh & Kinsella, 1980). از مقایسه مقادیر زمان القا، شیب نمودار در ناحیه خطی (K_{IP}) در دو نمونه روغن آفتابگردان و زیتون، مشاهده می‌شود روغن‌زیتون به‌علت بالابودن مقدار اسیدهای چرب تک غیراشباع، پایداری اکسایشی بالاتری نسبت به روغن آفتابگردان نشان می‌دهد. طول دوره القاء (مدت‌زمان لازم برای انتقال واکنش از فاز آغازین به فاز انتشار) به‌عنوان معیاری مناسب برای اندازه‌گیری کمی پایداری اکسایشی سیستم‌های لیپیدی در نظر گرفته می‌شود. تغییرات عدد پراکسید در برابر زمان نشان می‌دهد سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها در زمان خاص به‌یک‌باره دچار تغییر شده، شروع به افزایش می‌کند که این بیانگر انتقال واکنش از فاز آغازین به فاز انتشار می‌باشد (Farhoosh, 2016) هر دو آنتی‌اکسیدان اسیدگالیک و متیل‌گالات دارای سه گروه هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک هستند با این تفاوت که در متیل‌گالات یک گروه متیل استر جایگزین گروه کربوکسیلی شده است. گروه‌های هیدروکسیل در متیل‌گالات به دلیل وجود گروه متیل استر، آنتالپی تفکیک پیوند کمتری دارند و درنتیجه قدرت الکترون دهندگی بیشتری از خود نشان می‌دهند (Farhoosh & Nystrom, 2018; Asnaashari *et al.*, 2014) پارامترهای سینتیکی مربوط به اثر آنتی‌اکسیدان‌ها بر سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها در روغن آفتابگردان در جدول ۱ نشان داده‌شده‌اند. فاکتور پایداری (F) که توانائی آنتی‌اکسیدان‌ها در متوقف

کردن زنجیره رادیکالی اکسایش به‌وسیله ایجاد برهمکنش‌های مختلف با رادیکال پراکسید نشان می‌دهد، برای آنتی‌اکسیدان TBHQ به‌طور معنی‌دار، بالاتر از مقادیر به‌دست‌آمده برای دو آنتی‌اکسیدان دیگر می‌باشد. این فاکتور متأثر از دوره القای آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد و با توجه به اثربخشی آنتی‌اکسیدان‌ها در افزایش طول دوره القا، قابل‌انتظار می‌باشد. بالاترین مقدار به‌دست‌آمده در مورد پارامتر سرعت اکسایش ORR، که شرکت آنتی‌اکسیدان در سایر واکنش‌ها را نشان می‌دهد، مربوط به آنتی‌اکسیدان اسیدگالیک می‌باشد. پارامتر فعالیت آنتی-اکسیدانی A که نشانگر کارآئی کلی آنتی‌اکسیدان‌ها است در TBHQ بالاتر از دو آنتی‌اکسیدان دیگر می‌باشد. در خصوص فعالیت اسیدهای دی هیدروکسی بنزوئیک در برابر رادیکال‌های پراکسیل به روش انتقال هیدروژن، دو خصوصیت مهم ساختمانی مطرح است: اول این‌که گروه هیدروکسیلی که قرار است اتم هیدروژن را انتقال دهد باید در موقعیت متا نسبت به گروه کربوکسیل باشد و دوم این‌که این گروه هیدورکسیل باید در موقعیت پارا یا اورتو نسبت به سایر گروه‌های هیدروکسیل قرار گیرد (Pe´rez-Gonza´lez *et al.*, 2014). محققان گزارش نموده‌اند عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها به عوامل مختلفی ازجمله برهمکنش آن با محیط اکسایشی، روغن یا امولسیون، بستگی دارد. بر طبق پدیده‌ای که به تناقض قطبی[1] از آن یاد می‌شود، آنتی‌اکسیدان‌های قطبی در محیط-های روغنی تا امولسیونی مؤثرتر واقع می‌شوند (Huang *et al.*, 1996; Frankel *et al.*, 1994). تأثیر قطبیت آنتی‌اکسیدان‌ها بر عملکرد آن‌ها در سیستم‌های آبی-لیپیدی توسط پورتر (Porter, 1993) موردمطالعه قرارگرفته است. نتایج حاکی از آن بود فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیر قطبی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های قطبی در سیستم‌های پراکنده حاوی فسفولیپید بیشتر است که این اثر را تناقض قطبی نامید. همچنین در مقابل، آنتی‌اکسیدان‌های قطبی عملکرد بهتری در سیستم خالص روغنی تا آنتی‌اکسیدان‌های غیر قطبی داشتند. اسیدگالیک به‌دلیل دارا بودن تعداد کافی گروه‌های هیدروکسیل تمایل زیادی به فاز آبی نشان می‌دهد که این امر نشان‌دهنده قطبیت بالای آن است (Mattia *et al.*, 2009). در سیستم روغنی، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بسته به قطبیت این ترکیبات و نیز توانایی هیدروژن دهندگی آن‌هاست و آنتی‌اکسیدان‌های هیدروفیل در سطح مشترک روغن-هوا قرار می‌گیرند و لذا بهتر قادر به محافظت روغن در مقابل اکسایش می‌باشند، نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های غیر قطبی که در فاز روغن پراکنده می‌شوند (Zhu *et al.*, 2013). طبق نظریه تناقض قطبی، متیل‌گالات باوجود قدرت مهارکنندگی ضعیف‌تر رادیکال آزاد نسبت به اسیدگالیک، اما به‌دلیل قطبیت کمتر در مقایسه با اسیدگالیک، در سیستم امولسیونی بهتر از اسیدگالیک عمل نمود (Asnaashari *et al.*, 2014). هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش لیپیدی می‌باشند که به‌دلیل پایداری کم از طریق مکانیسم‌های تجزیه‌ای مختلف، ترکیبات کربونیل با پایداری بالاتر را به وجود می‌آورند. اندازه‌گیری ترکیبات کربونیل حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها، معیار مناسبی برای سنجش میزان توسعه واکنش‌های اکسایشی است. اندازه‌گیری این ترکیبات اهمیت بسیار بالائی در سنجش تندی و ایمنی روغن‌های گیاهی در فرآیندهای حرارتی دارند. تغییرات عدد کربونیل حین آون‌گذاری برای همه نمونه‌های روغن، روند افزایشی نشان داد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل بحرانی در دو تیمار اسیدگالیک و TBHQ، بیشتر بوده و در نتیجه عملکرد بهتری داشتند. در تیمار اسیدگالیک و TBHQ، تغییرات عدد کربونیل، در انتهای آون‌گذاری با کاهش روبرو می‌شود که احتمالاً ناشی از تجزیه ترکیبات کربونیل و تولید ترکیبات پلیمری است. که با آزمون عدد کربونیل قابل‌اندازه‌گیری نیستند.

جدول ۳- عدد کربونیل روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد (اختلاف میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵٪ معنی‌دار است)

Table 3- Carbonyl index of sunflower oil at 80°C(the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی‌اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی اکسیدان	IP (min) دوره القا	$T_{43.5}$ (min) زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل ٤٣/٥	CV_{IP} (mMg^{-1}) عدد کربونیل در دوره القا)
CONTROL	0	$265^{a}\pm0.44$	$351^{a}\pm1$	$28.8^{c}\pm0.0$
GA	1.2	$2252^{b}\pm3$	$3001^{c}\pm16$	$21.8^{a}\pm0.8$
MG	1.2	$2523^{c}\pm3$	$2936^{b}\pm9$	$29.9^{d}\pm0.0$
TBHQ	1.2	$5402^{d}\pm6$	$6639^{d}\pm47$	$23.2^{b}\pm0.7$

1- Polar paradox

جدول ٤- عدد کربونیل روغن‌زیتون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد (اختلاف میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵٪ معنی‌دار است)

Table 4- Carbonyl index of olive oil at 80°C (the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی‌اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی‌اکسیدان	IP (min) دوره القا	$T_{43.5}$ (min) زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل ٤٣/٥	CV_{IP} (mMg^{-1}) عدد کربونیل در دوره القا
CONTROL	0	$1052^{a}\pm0.78$	$1221^{a}\pm10$	$26.8^{b}\pm1.0$
GA	1.2	$4313^{c}\pm8$	$4932^{c}\pm51$	$26.5^{b}\pm1.1$
MG	1.2	$3443^{b}\pm10$	$4560^{b}\pm31$	$20.5^{a}\pm2.8$
TBHQ	1.2	$11188^{d}\pm44$	$13092^{d}\pm143$	$26.5^{b}\pm1.5$

نتیجه‌گیری

اثربخشی بهتر اسیدگالیک در مقایسه با متیل‌گالات در روغن‌زیتون و اثربخشی بهتر متیل‌گالات در مقایسه با اسیدگالیک در روغن آفتابگردان تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، نشان می‌دهد ترکیب اسید چرب، ماهیت سیستم‌های لیپیدی و موقعیت قرارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط واکنش، تأثیر بسزایی در بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها دارند. تعیین پایداری اکسایشی بر اساس عدد کربونیل، نتایج مشابهی با عدد پراکسید نشان می‌دهد و تیمارهای با عملکرد بهتر در به تأخیر انداختن دوره القا، عملکرد به‌مراتب بهتری در کاهش تولید ترکیبات کربونیل از خود نشان دادند.

References

1. Asnaashari, M., Farhoosh, R., & Sharif, A. (2014). Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, *159*, 439-444. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.038
2. Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., Zarrouk, M., & Daoud Ben Miled, D. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, *109*, 743-754. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.034
3. Becker, E.M., Nissen, L.R., & Skibsted, L.H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, *219*, 561-571. https://doi.org/10.1007/s00217-004-1012-4
4. Bendary, E., Francis, R.R., Ali, H.M.G., Sarwat, M.I., & Hady, S.EI. (2013). Antioxidant and structure-activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds. *Annals of Agricultural Science*, *58*, 173-181. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2013.07.002
5. Borde, V., UPangrikar, P.P., & Tekale, S.U. (2011). Gallic acid in ayurvedic herbs and formulations. *Recent Research in Science and Technology*, *3*(7), 51-54.
6. Budilarto, E.S., & Kamal-Eldin, A. (2015). The supramolecular chemistry of lipid oxidation and antioxidation in bulk oils (accepted article). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 1-74. https://doi.org/10.1002/ejlt.201400200
7. Cao, G., Sofic, E., & Prior, R.L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships, *22*(5), 749-760. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00351-6
8. Chaiyasit, W., McClements, D.J., & Decker, E.A. (2005). The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(12), 4982-8. https://doi.org/10.1021/jf0501239
9. Choe, E., & Min, D.B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*, 345-358. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00085
10. Cuvelier, M.E., Richard, H., & Berset, C. (1992) .Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structureactivity relationship. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *56*(2), 324-325. https://doi.org/10.1271/bbb.56.324
11. Denisove, E., & Khudyakov, I. (1987). Mechanism of action and reactivities of the free radicals of inhibitors. *Chemical Reviews*, *87*, 1313-1357. https://doi.org/10.1021/cr00082a003
12. Endo, Y., Li, C.M., Tagiri-Endo, M., & Fugimoto, K. (2001). A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *10*, 1021-1024. https://doi.org/10.1007/s11746-001-0381-1
13. Farhoosh, R. (2005). Antioxidant activity and mechanism of action of butein in linoleic acid. *Food Chemistry*, *93*, 633-639. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.041
14. Farhoosh, R. (2007). The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf life of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*, 205-209. https://doi.org/10.1007/s11746-006-1030-4

15. Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., & Sarabi, M. (2008). Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *110*, 587-592. https://doi.org/10.1002/ejlt.200800004
16. Farhoosh, R., & Tavasoli Kafrani, M.H. (2011) Simutaneous monitoring of conventional qualitative indicators during frying of sunflower oil. *Food Chemistry, 125*, 209-213. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.064
17. Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.Z. (2013). Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, *141*, 557-565. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.024
18. Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.Z. (2014). Evolution of oxidative values during Kinetic studies on olive oil oxidation in the Rancimat test. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *91*(2), 281-293. https://doi.org/10.1007/s11746-013-2368-z
19. Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N., & Sharif, A. (2016a). Structure-antioxidant activity relationships of *o*-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of *p*-hydroxybenzoic acid. *Food Chemistry*, *194*, 128-134. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.003
20. Farhoosh, R., Sharif, A., Asnaashari, M., Johnny, S., & Molaahmadibahraseman, N. (2016b). Temperature-dependent mechanism of antioxidant activity of *o*-hydroxyl, *o*-methoxy, and alkyl ester derivatives of *p*-hydroxybenzoic acid in fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *93*, 555-567. https://doi.org/10.1007/s11746-016-2790-0
21. Farhoosh, R, & Nystrom, L.(2018). Antioxidant potency of gallic acid, methyl gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Food Chemistry*, *244*, 29-35. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.025
22. Frankel, E.N. (1980). Lipid oxidation. *Progress in Lipid Research*, *19*, 1-22. https://doi.org/10.1016/0163-7827(80)90006-5
23. Frankel, E.N. (2005). *Lipid oxidation*. The Oily Press LTD. Dundee, Scotland.
24. Frankel, E.N., Huang, S.W., Kanner, J., & German, J.B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs. emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *42*, 1054-1059. https://doi.org/10.1021/jf00041a001
25. Hsieh, R.J., & Kinsella, J.E. (1980). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and Nutrition Research*, *33*, 233-341. https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60129-1
26. Huang, S.W., Frankel, E.N., Schwarz, K., Aeschbach, R., & German, J.B. (1996). Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*, 2951-2956. https://doi.org/10.1021/jf960068r
27. Kamal-Eldin, A. (2003). *Lipid oxidation pathways*. AOCS Press: USA. https://doi.org/10.1201/9781003040316
28. Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 2161-2168. https://doi.org/10.1021/jf011348w
29. Kim, S.H, Jun, C.D., Suk, K., Choi, B.J., Lim, H., Park, S., Lee, S.H., Shin, H.Y., Kim, D.K., & Shin, T.Y. (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicol Science*, *91*, 123-131. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj063
30. Leopoldini, M., Pitarch, I.P., Russo, N., & Toscano, M. (2004a). Structure, conformation and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, *108*, 92-96. https://doi.org/10.1021/jp035901j
31. Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., & Toscano, M. (2004b). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, *108*, 4916-4922. https://doi.org/10.1021/jp037247d
32. Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, *125*, 288-306. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012
33. Marinova, E.M., & Yanishlieva, N.V. (1992). Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *60*, 313-318. https://doi.org/10.1002/JSFA.2740600307
34. Matalgyto, F.S., & Al-Khalifa, A.S. (1998). Effect of microwave oven heating on stability of some oil and fats. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, *16*, 21-40. https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1152481
35. Mattia, C.D.D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, *42*(8), 1163-1170. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.017
36. Merkl, R., Hradkova, I., Filip, V., & Smidrkal, J.(2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkylesters. *Czech Journal of Food Sciences*, *28*, 275-279. https://doi.org/10.17221/132/2010-CJFS

37. Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., & Valenzuela, A. (1996). Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *73*, 1033-1037. https://doi.org/10.1007/BF02523412
38. Pekkarinen, S., Heinonen, M., & Hopia, A. (1999). Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*, 499-506. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990315)79:4<499::AID-JSFA204>3.0.CO;2-U
39. Pe´rez-Gonza´lez, A., Galano, A., & Alvarez-Idaboy, J.R. (2014). Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: Mechanisms, kinetics, and trends in activity. *New Journal of Chemistry*, *38*, 2639-2652. https://doi.org/10.1039/C4NJ00071D
40. Pokorny, J. (1987). Major factors affecting the autoxidation of lipids. In H.W.S. Chan (Ed.), *Autoxidation of Unsaturated Lipids* (pp. 141-205). Academic Press: London.
41. Porter, W.L. (1993). Paradoxical behavior of antioxidants in food and biological systems, in *Antioxidants: Chemical, Physiological, Nutritional and Toxicological Aspects* (William, G.M., ed.), (pp. 93-122). Princeton Scientific, Princeton. https://doi.org/10.1177/0748233793009001-209
42. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Chemistry*, *20*, 933-956. https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9
43. Shahidi, F., Janitha, P.K., & Wanasundara, P.D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *32*, 67-103. https://doi.org/10.1080/10408399209527581
44. Wanasundara, P.K., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: science, technology, and applications. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. Pp: 431-489. https://doi.org/10.1002/047167849X.bio002
45. Yanishlieva, N.V., & Marinova, E.M. (1992). Inhibited oxidation of lipids I. Complex estimation and comparison of the antioxidative properties of some natural and synthetic antioxidants. *Fats Science Technology*, *94*, 374-379. https://doi.org/10.1002/lipi.19920941004
46. Yanishlieva, N.V., & Marinova, E.M. (1995). Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*, *54*, 371-382. https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00061-M
47. Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H., & Raneva, V.G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, *64*, 59-66. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00086-7
48. Zhu, Y., Long, Q.Z., Zhou, B., Prenzler, P.D., & Zhong, H.Y. (2013). Antioxidant activity of phenolic compounds in bulk camellia oil and corresponding oil in water (O/W) emulsions. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *5*, 1238-1243. https://doi.org/10.19026/ajfst.5.3089